

ボトックスビスタ注用50単位

製造販売承認申請書添付資料

第2部（モジュール2） CTDの概要（サマリー）

2.4. 非臨床試験の概括評価

グラクソ・スミスクライン株式会社

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

AGN191622 (以下、「本剤」という。)は、ボツリヌス菌 *Clostridium botulinum* により産生される A 型ボツリヌス毒素を有効成分とする筋弛緩作用を有する製剤であり、すでに「眼瞼痙攣」(1996 年 10 月 9 日承認)、「片側顔面痙攣」(2000 年 1 月 18 日承認) および「痙攣性斜頸」(2001 年 6 月 20 日承認) を効能・効果として承認されている。

A 型ボツリヌス毒素は、神経筋接合部における神経終末からのアセチルコリン遊離の抑制およびそれによる神経筋伝達の阻害により筋弛緩作用を発現し、既承認の疾患に対して効果を示す。眉間の表情皺に対しても、表情皺を形成する鼻根筋および皺眉筋への投与により、その収縮を抑制し、表情皺を改善する可能性が考えられた。本承認申請は、別販売名を付した 50 単位製剤について、「眉間の表情皺」の効能を取得すべく承認申請を行うものである。本効能に関する作用機序は既承認効能と同じ本剤の筋弛緩作用に基づくものであり、効力を裏付ける試験としては、ヒトの眉間の表情皺を再現する適切な動物モデルがないことから実施しなかった。また、本申請投与経路は既承認効能と同じであり、本申請用法・用量は既承認効能の用法・用量の範囲内であることから、その他の薬理試験および薬物動態試験は新たに実施しなかった。しかしながら、今回の適用が希少疾病ではないことから、本剤の安全性を担保するための資料として、さらにサル 1 年間筋肉内分割投与毒性試験および臨界期単回筋肉内投与によるラット胚・胎児発生に関する試験を評価した。なお、本剤の特性から被験物質の分析は行われていないが、これらの試験はいずれも GLP 適用試験として実施されている。

2.4.2 薬理試験

医薬部外品および化粧品などの抗皺効果ならびに光老化における皺の生成機構を検討するための動物モデルは確立されている^{1), 2), 3), 4)}。しかし、これらの動物モデルは光老化や内因性老化を成因としており、「眉間の表情皺」に対する改善効果の評価には適切ではないと考えられたため、新たな試験は実施しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

本承認申請は、「眉間の表情皺」の効能を取得するために行うものである。本申請用法・用量は既承認用法・用量の範囲内であることから、薬物動態試験について新たな試験は実施しなかった。

2.4.4 毒性試験

本剤の非臨床安全性に関しては、先の「眼瞼痙攣」および「顔面痙攣」の承認申請時に提出した広範な毒性試験の結果から、臨床での十分な使用制限あるいは注意喚起がなされており、安全性は確保されていると判断した。しかし、今回の「眉間の表情皺」に関する効能取得の承認申請において、適用が希少疾病ではないことから、本剤の安全性を担保するための資料として、さらにサル 1 年間筋肉内分割投与毒性試験および臨界期単回筋肉内投与によるラット胚・胎児発生に関する試験を評価した。

反復投与毒性試験

サルに本剤の 8、12 および 16 単位/kg を左右腓腹筋の内・外側頭部および左右大腿二頭筋に 6 等分して、3 ヶ月に 1 回、1 年間筋肉内分割投与（合計 5 回）した（2.6.6.3.1 参照）。その結果、本剤の局所的な薬理作用による投与部位および周辺筋肉の肉眼的あるいは組織学的な小型化・萎縮に基づく後肢の脱力、運動障害を伴う姿勢・歩行異常が観察された。本剤は神経終末に直接作用して、筋線維の収縮を阻害し、結果として筋萎縮や筋変性を生じると考えられている。また、体重増加量および血清クレアチニンの低値も全投薬群で認められたが、これらの変化も筋肉の小型化・萎縮により、筋肉量が減少したことによる二次的な変化と考えられる。

以上のように、観察された種々の変化はいずれも本剤の薬理作用に基づくものであったことから毒性とは判断せず、本試験における無毒性量は 16 単位/kg と推定された。

先に実施した左腓腹筋の内・外側頭の 2 ヶ所への分割投与によるサル 1 年間投与試験⁵⁾（4、8 および 16 単位/kg、2 ヶ月に 1 回：合計 7 回）では、16 単位/kg 群で全身毒性の臨床徴候（振戦、嗜眠、鼻漏、体温低下、脱水症状、摂餌量の低値）が認められたが、本試験では同様の変化は観察されなかった。これは本試験と比較して、先の試験の投与間隔が短かったこと、さらに投与部位 1 ヶ所への投与量が多く、投与液濃度が高かったため、投与部位からの拡散・漏出が強く発現したことによる可能性が考えられる。一方、本試験で局所的な作用（筋肉への影響：運動障害、筋肉の萎縮・小型化）が強く観察されたが、その原因として先の試験では左腓腹筋のみへの投与であったのに対し、後肢の多くの筋肉（左右腓腹筋および大腿二頭筋）に同時に投与したことによるものと考えられる。

これらのことから、投与部位 1 ヶ所に高用量の本剤を投与することにより、投与部位からの拡散や漏出によって本剤が全身循環に移行し、全身毒性が引き起こされると考えられた。これに対し、複数投与部位への比較的 low 用量での分割投与は、拡散・漏出が限定され、総量が同じでも全身毒性を軽減させるものと考えられた。

生殖発生毒性試験

ラットの妊娠 3 日（着床時期）、6 日（着床完了時期、発生分化開始）、9 日（催奇形性の影響に対して最も感受性の高い時期）、12 日（器官形成期）あるいは 15 日（器官形成終了時期）⁶⁾に本剤の 1、4 および 16 単位/kg を左腓腹筋に単回筋肉内投与し、母動物の生殖能および胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した（2.6.6.6.1 参照）。その結果、全投薬群に本剤の局所的な薬理作用による後肢先端の湾曲、跛行および握力減少が用量依存的に観察されたが、投与時期による相違はみられなかった。また、16 単位/kg 群では摂餌量の軽度な低値を伴う体重増加量の低値が観察されたが、いずれの投薬群においても母動物の生殖能および胚・胎児の発生に本剤の影響は認められなかった。

以上のことから、いずれの投与時期においても、母動物の一般毒性学的無毒性量は 4 単位/kg、母動物の生殖能および胚・胎児に対する無毒性量はいずれも 16 単位/kg と推定された。

先に実施したラットの胚・胎児発生への影響に関する試験^{7), 8)}（4、8 および 16 単位/kg を妊娠 5 および 13 日に筋肉内投与、0.5、1、4 および 8 単位/kg を妊娠 6～17 日に反復筋肉内投与）では、本試験に比較し、母動物の一般状態、体重あるいは摂餌量に影響が強く観察され、母動物の一般状態悪化によると考えられる胎児体重の低値がみられたが、母動物への影響の強さは投与回数によるものと考えられる。なお、本試験で採用した投与方法は臨床使用形態により近いものであることから、試験結果は本剤のヒトにおける安全性をより適切に予測しているものと考えられる。

2.4.5 総括および結論

A型ボツリヌス毒素は、神経筋接合部における神経終末のアセチルコリン遊離を抑制し、神経筋伝達を阻害することにより筋弛緩作用を発現する。本剤の筋弛緩作用およびその作用機序は、「眼瞼痙攣」(1996年10月9日承認)の承認申請時に評価され、すでに明らかである。本追加効能は既承認効能と同じ筋弛緩作用に基づくものであり、本剤は眉間の表情皺を形成する鼻根筋および皺眉筋への投与によって、これら表情筋の収縮を抑制し、表情皺を改善するものと考えられる。

本薬の毒性の特性を明らかにするために、現在までに単回投与毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性、局所刺激性、抗原性、溶血性ならびに強制劣化品の単回投与毒性および局所刺激性が検討されている。

単回および反復投与毒性試験で観察された変化は、本剤の局所的な薬理作用による投与部位筋肉およびその周辺筋肉の小型化・萎縮に基づく運動障害を伴う姿勢・歩行異常、あるいはその二次的変化であったが、全身作用および反復投与による程度の明らかな増悪は認められていない。投与に際しては、投与部位からの拡散や漏出によって本剤が全身循環に移行し、全身毒性が引き起こされる可能性があることから、臨床使用に際しては用法・用量を遵守し、適切な部位に投与量に十分留意して投与することが望まれる。また、動物試験において投与筋内および投与筋以外の筋への拡散がみられ、投与筋以外の筋に作用を及ぼす可能性が示唆されたことから、一般に生理機能が低下した高齢者に対してはより慎重な投与が望まれる。

本剤に関する広範な生殖発生毒性試験の結果、ウサギでは流産あるいは早期分娩が観察され、ラットおよびマウスでは母体毒性による胎児発育遅延がみられたが、胚・胎児致死および催奇形作用は認められなかった。しかし、動物を用いた試験によって必ずしもヒトにおける反応を予測することはできないことを考慮し、本剤の妊婦への投与は限定されるべきで、治療の利益が胎児への危険性を上回ると判断される場合のみ実施すべきであると考える。添付文書では「妊娠する可能性のある婦人は、投与中及び最終投与後2回の月経を経るまでは避妊する」、「妊婦又は妊娠している可能性のある婦人及び授乳婦には投与しないこと」および「男性は投与中及び最終投与後少なくとも3カ月は避妊する」ことを明記し、臨床使用における注意を喚起し、安全性確保を図っている。

抗原性試験では、本剤およびプラセボ(ヒト血清アルブミン)とも抗原性が示されたが、本剤の抗原性の程度はプラセボ以上の強さではなかった。本製剤中にはボツリヌス毒素蛋白をはるかに超える量のヒト血清アルブミンが含有されていることから(ヒト血清アルブミン0.5mg対ボツリヌス毒素蛋白ナノグラム量)、この試験でみられた反応は、非相同試験系における異種蛋白のヒト血清アルブミン投与に対する影響と考えられる。しかしながら、より安全性を確保するために、添付文書には「アナフィラキシー様症状を起こす可能性があるため、本剤の投与に際しては、アナフィラキシー様症状の発現に備えること。また、本剤投与後、悪心等の体調の変化がないか、患者の状態を十分観察し、異常がないことを確認すること。呼吸困難、全身潮紅、血管浮腫、発疹等のアナフィラキシー様症状が認められた場合には投与を中止し、血圧の維持、体液の補充管理、気道の確保等の適切な処置を行うこと」と記載し、注意喚起を行っている。

その他、遺伝毒性試験、局所刺激性試験、溶血性試験ならびに強制劣化品の単回投与毒性および局所刺激性試験の結果は、いずれも陰性であった。

以上のとおり、本剤の「眉間の表情皺」の承認申請に際して特に危惧される新しい知見は得られていないが、今までに得られている広範な非臨床試験結果を勘案し、臨床使用においては、用法・用量を遵守し、適切な部位に投与量に十分留意して投与することが望まれる。

2.4.6 参考文献一覧

- 1) Bissett DL, Hannon DP, Orr TV. An animal model of solar-aged skin: histological, physical, and visible changes in UV-irradiated hairless mouse skin. *Photochem Photobiol.* 1987;46(3):367-378.
- 2) Kligman LH, Akin FJ, Kligman AM. The contributions of UVA and UVB to connective tissue damage in hairless mice. *J Invest Dermatol.* 1985;84(4):272-276.
- 3) Tsukahara K, Moriwaki S, Fujimura T, Takema Y. Inhibitory effect of an extract of *Sanguisorba officinalis* L. on ultraviolet-B-induced photodamage of rat skin. *Biol Pharm Bull.* 2001;24(9):998-1003.
- 4) 今山修平. 結合組織内線維構築の経時的変化—歳をとると何故“皺”や“弛み”を生じるか—. *西日皮膚* 1989;51(6):1093-1100.
- 5) ボトックス注[®]100 眼瞼痙攣 承認時添付資料 ニー5
- 6) DeSesso JM, Harris SB. Principles Underlying Developmental Toxicity. In: Fan AM, Chang LW, editors. *Toxicology and Risk Assessment: Principles, Methods, and Applications.* Marcel Dekker, Inc., 1996:37-56.
- 7) ボトックス注[®]100 眼瞼痙攣 承認時添付参考資料 26
- 8) ボトックス注[®]100 顔面痙攣 承認時添付資料 ニー1